



University of Groningen

Morfologische en functionele aspecten van de opslag en afgifte van insuline bij de ongeboren en pasgeboren rat

Freie, Harm Maarten Paul

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
1974

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Freie, H. M. P. (1974). Morfologische en functionele aspecten van de opslag en afgifte van insuline bij de ongeboren en pasgeboren rat. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

Onderwerp van de in dit proefschrift beschreven onderzoeken was de ontwikkeling van de insulineproducerende endocriene pancreas bij de jonge rat in de periode voor en na de geboorte en de relaties tussen verschillende morfologische en functionele aspecten van deze ontwikkeling.

In hoofdstuk I is aan de hand van de literatuur een overzicht gegeven van de huidige kennis op dit gebied en is verduidelijkt op welke punten nog hiaten in deze kennis bestaan. Over het verloop van de cytodifferentiatie van de B-cellen en de histogenese van de eilandjes van Langerhans vanaf vroeg in de gestatie tot in de eerste week na de geboorte zijn vele microscopische onderzoeken verricht. Over de kwantitatieve ontwikkeling van het eilandapparaat in zijn geheel is, voorzover het de foetale periode betreft, weinig bekend. Wel is gevonden dat reeds in een vroeg stadium van de ontwikkeling immunoreactief insuline in de pancreasaanleg aanwezig is en dat het hormoon in latere fasen van de ontwikkeling in de foetale circulatie kan worden aangetoond. De directe relaties tussen de morfologische ontwikkeling van de eilandjes enerzijds en meer functionele aspecten zoals de biosynthese, de afgifte en eventuele werkingen van insuline tijdens de foetale periode anderzijds zijn echter niet of nauwelijks bestudeerd.

In het in hoofdstuk II beschreven deel van ons onderzoek hebben wij getracht het verloop van het pancreasinsulinegehalte en van de spiegels van insuline en glucose in het plasma (en vruchtwater) tijdens de laatste 5 dagen van de zwangerschap en de 1e en 5e dag na de geboorte te correleren aan de resultaten van een kwantitatief morfologisch onderzoek van het eilandapparaat op deze tijdstippen. Zoveel mogelijk werden deze criteria ook bij de moederdieren onderzocht.

In overeenstemming met de literatuur neemt de insulineconcentratie in de foetale respectievelijk neonatale pancreas tijdens de laatste twee dagen van de gestatieperiode en de eerste dagen na de geboorte snel toe. Op de 18e dag van de 22 dagen durende zwangerschap blijkt insuline in het foetale plasma reeds aanwezig te zijn in concentraties die iets lager zijn dan die van insuline in het moederlijke plasma op dit tijdstip. De laatste twee dagen van de zwangerschap (dag 21 en 22 p.c.) worden daarentegen gekenmerkt door zeer hoge foetale plasmainsulinespiegels, die daarmee een veelvoud zijn van die van het moederdier. Dit wijst er op dat de foetale pancreas inderdaad insuline afgeeft. Deze periode van hoge foetale plasma-insulinespiegels valt samen met een stijging van de foetale plasmaglucoconcentratie tot waarden die de moederlijke glucosespiegels dicht benaderen. Een opmerkelijk verschijnsel is verder dat op de 1e dag na de geboorte de plasmainsulinespiegels bij de jonge rat zeer scherp dalen tot waarden beneden die van het moederdier. Deze daling blijkt al binnen 1 uur na de geboorte te beginnen. De plasmaglucoconcentratie neemt de eerste dag na de geboorte echter eerder toe dan af.

De kwantitatieve en kwalitatieve morfologie van de eilandjes in de pancreas van de ongeboren en de pasgeboren rat en hun moeder is in het tweede deel van hoofdstuk II beschreven. Aan de hand van het percentage B-cellen in de eilanden en

en onderzoeken was de
pancreas bij de jonge rat in
verschillende morfologische

een overzicht gegeven van de
ke punten nog hiaten in deze
ntiatie van de B-cellen en de
roeg in de gestatie tot in de
nderzoeken verricht. Over
t in zijn geheel is, voorzover
s gevonden dat reeds in een
nsuline in de pancreasaanleg
de ontwikkeling in de foetale
ies tussen de morfologische
nctionele aspecten zoals de
n insuline tijdens de foetale
leerd.

nderzoek hebben wij getracht
piegels van insuline en glucose
agen van de zwangerschap en
sultaten van een kwantitatief
eze tijdstippen. Zoveel moge-
rzocht.

de insulineconcentratie in de
laatste twee dagen van de
toe. Op de 18e dag van de 22
tale plasma reeds aanwezig te
n insuline in het moederlijke
zwangerschap (dag 21 en 22
foetale plasmainsulinespiegels,
erdier. Dit wijst er op dat de
ode van hoge foetale plasma-
etale plasmaglucoconcentra-
cht benaderen. Een opmerke-
orte de plasmainsulinespiegels
die van het moederdier. Deze
nen. De plasmaglucoconcen-
r toe dan af.

de eilandjes in de pancreas van
er is in het tweede deel van
tage B-cellen in de eilanden en

de intensiteit van de granulatie der B-cellen kon worden vastgesteld dat de eilandjes op de laatste dag voor de geboorte een stadium bereiken dat overeenkomt met de toestand bij het volwassen dier. In de daaropvolgende neonatale periode treedt hierin geen verandering meer op. Ook het insulinegehalte van het eilandweefsel, dat berekend kan worden uit de hoeveelheid extraheerbare insuline en het gewicht van de totale eilandmassa, blijkt eenzelfde patroon te volgen. Hieruit concluderen wij dat de kwalitatieve ontwikkeling van de eilandjes als insuline-producerende eenheden op de laatste dag vóór de geboorte is voltooid.

Als parameters voor de kwantitatieve ontwikkeling kozen wij het percentage eilandweefsel per pancreas en het gewicht van de totale eilandmassa dat uit dit percentage en het pancreasgewicht kan worden berekend. Bovendien werden de in het tijdsverloop optredende veranderingen in het totale aantal eilanden berekend uit tellingen van het aantal eilanden in een groot aantal pancreascoupees per ontwikkelingsstadium. Het percentage endocrien weefsel nam van dag 19 p.c. tot de laatste dag van het intrauteriene verblijf (dag 22 p.c.) slechts langzaam toe van $0,7 \pm 0,04\%$ tot $1,5 \pm 0,24\%$. Op de eerste dag na de geboorte bleek het percentage echter te zijn gestegen tot $2,6 \pm 0,25\%$ om op de 5e dag p.p. een waarde van $3,6 \pm 0,47\%$ te bereiken. Deze na de geboorte gevonden waarden overtreffen die van de volwassen pancreas ($1,1 \pm 0,1\%$) aanzienlijk. Ook de concentratie van insuline in de pancreas van de 5 dagen oude rat blijkt ongeveer drie maal hoger te zijn dan die in de volwassen pancreas ($7,8 \pm 0,7$ versus $2,7 \pm 0,1$ mE/mg).

Terwijl tussen dag 19 p.c. en dag 21 p.c. de totale eilandmassa en de gehele pancreas een snelle exponentiële groei doormaken, blijkt de groeisnelheid van de gehele pancreas vanaf de 21e dag plotseling af te nemen. De snelle groei van de eilandmassa daarentegen blijkt zich tijdens dag 22 p.c. en de eerste dag na de geboorte onverminderd door te zetten, om pas daarna af te nemen. Het hoge percentage aan eilandweefsel in de pancreas van de pasgeboren rat is derhalve het gevolg van een verschil in groeisnelheden van exocrien en endocrien weefsel gedurende een korte, scherp begrensde periode vóór en na de geboorte.

Door Hellman is aangetoond dat de totale eilandmassa is opgebouwd uit een groot aantal eilanden die in verschillende grootteklassen zijn onder te brengen. Het verdelingspatroon over deze klassen is zeer asymmetrisch in die zin, dat de kleinste eilanden het meest vertegenwoordigd zijn en de grote eilanden slechts zeer spaarzaam. Groei van het eilandjesapparaat wordt bepaald door de snelheid waarmee nieuwe eilanden worden gevormd en de snelheid waarmee bestaande eilanden, onder handhaving van het bestaande verdelingspatroon, naar hogere grootteklassen opschuiven. Een indruk omtrent de snelheid waarmee nieuwe eilandjes worden gevormd konden wij verkrijgen uit de veranderingen die van dag tot dag optreden in de index voor het totale eilandjesaantal. Juist tussen de laatste dag vóór en de eerste dag na de geboorte bleek de toename van deze index het grootst. Daarnaast is een plotselinge toename van het aantal solitaire B-cellen op de eerste dag *post partum* een opmerkelijk verschijnsel. Deze waarnemingen geven aan dat de pancreas van de pasgeboren rat een opvallend vermogen bezit nieuwe eilandjes van Langerhans te vormen uit tevoren ongedifferentieerde celelementen.

De in hoofdstuk III beschreven proeven waren gericht op een nadere functie-analyse van het zich ontwikkelende insuline-regelsysteem, te weten:

1. De werkzaamheid van de in de foetale pancreas aanwezige insuline op volwassen insulinegevoelig weefsel en enkele structurele eigenschappen van deze insuline.
2. De insulinegevoeligheid van perifere weefsel van de ongeboren en pasgeboren rat.
3. Het eventuele vermogen van de pancreas van de ongeboren en pasgeboren rat om insuline af te geven onder stimulatie met glucose.

Uit onze proeven met extracten van pancreasweefsel van foetale en neonate ratten blijkt dat de met de bioassay op volwassen vetweefsel gemeten insuline-activiteit overeenkomt met de activiteit die met de immunoassay gevonden wordt. Daarnaast blijkt de biologische activiteit op vetweefsel volledig met anti-insuline-serum onderdrukbaar te zijn. Uit de elutiepatronen van pancreasextracten bij gelfiltratie met Sephadexkolommen komt geen noemenswaard verschil tussen extracten van volwassen en foetaal pancreasweefsel wat betreft de verhouding tussen proinsuline en insuline naar voren.

In overeenstemming met reeds uit de literatuur bekende gegevens vonden wij dat het perifere spierweefsel (diafragma) van de 22 dagen p.c. foetale rat *in vitro* ongevoelig is voor de *in vivo* heersende insulineconcentraties. De werkzaamheid van insuline wat betreft de glucoseopname door diafragmaspierweefsel ontwikkelt zich pas na de geboorte. De waargenomen ongevoeligheid van geïncubeerd foetaal diafragmaweefsel blijkt een eigenschap van dit weefsel te zijn en berust niet op snelle afbraak van de toegevoegde insuline in het incubatiemedium.

In tegenstelling tot volwassen endocrien pancreasweefsel reageert dat van de foetale rat onder *in vitro* omstandigheden niet met verhoogde afgifte van insuline bij stimulatie met glucose. Enige gevoeligheid voor glucosestimulatie werd aangetroffen bij de pancreas van de 1 dag oude pasgeboren rat, terwijl een duidelijk effect van glucosestimulatie op de insulineafgifte bij pancreasweefsel van de 5 dagen oude rat werd waargenomen. Deze uitkomsten zijn in overeenstemming met de in de literatuur verschenen mededelingen.

De mogelijkheid dat het adenylcyclase-cyclisch AMP-fosfodiesterase-systeem een rol speelt bij de rijping van de glucosegevoeligheid van het insulineafgifte-mechanisme werd onderzocht door het effect van glucosestimulatie op de insulineafgifte van foetaal en neonataal pancreasweefsel te meten na incubatie met en zonder toevoeging van theophylline aan het medium. Dit aspect werd bij twee concentraties van theophylline bestudeerd te weten bij 2,5 en 10 mM. Op de eerste dag na de geboorte, het tijdstip waarop voor de eerste maal glucosegevoeligheid van het afgiftemechanisme werd waargenomen, werd geen effect van theophylline gezien. Op de laatste dag voor de geboorte, een tijdstip waarop de glucosegevoeligheid nog geheel ontbreekt, werd de insulinesecretie zelfs geremd door de aanwezigheid van theophylline. Op het glucosegevoelige pancreasweefsel van de 5 dagen oude rat bleek theophylline het effect van glucose op de insulineafgifte te versterken, overeenkomstig het beeld dat van volwassen pancreasweefsel bekend is.

ht op een nadere functie-
te weten:

as aanwezige insuline op
structurale eigenschappen van

de ongeboren en pasgeboren

geboren en pasgeboren rat
ose.

sel van foetale en neonate
tweefsel gemeten insuline-
nunoassay gevonden wordt.
volledig met anti-insuline-
van pancreasextracten bij
menswaard verschil tussen
wat betreft de verhouding

kende gegevens vonden wij
gen p.c. foetale rat *in vitro*
aties. De werkzaamheid van
pierweefsel ontwikkelt zich
d van geincubeerd foetaal
l te zijn en berust niet op
ciemedium.

weefsel reageert dat van de
rhoogde afgifte van insuline
ucosestimulatie werd aange-
terwijl een duidelijk effect
weefsel van de 5 dagen oude
eenstemming met de in de

-fosfodiesterase-systeem een
id van het insulineafgifte-
osestimulatie op de insuline-
meten na incubatie met en
i. Dit aspect werd bij twee
2,5 en 10 mM. Op de eerste
naal glucosegevoeligheid van
en effect van theophylline
dstip waarop de glucosege-
retie zelfs geremd door de
ge pancreasweefsel van de 5
ose op de insulineafgifte te
n pancreasweefsel bekend is.

Aangezien volgens gegevens uit de litteratuur foetaal eilandweefsel (21 dagen p.c.) vrijwel volwassen spiegels aan cyclisch AMP en fosfodiesterase-activiteit bevat, suggereren onze resultaten dat de glucoseongevoeligheid van de foetale pancreas niet veroorzaakt wordt door het nog niet functioneel zijn van het cyclisch AMP-systeem.

In hoofdstuk IV beschreven proeven hadden tot doel na te gaan in hoeverre de abrupte daling van de insulineconcentratie in het plasma na de geboorte te maken had met het gebeuren van de geboorte als zodanig. Hiertoe werd het verloop van de plasmaspiegels van insuline en glucose vervolgd bij ratten die op dag 21 p.c. per keizersnede voortijdig ter wereld werden gebracht. Deze ingreep bleek geen enkele invloed te hebben op het verloop van deze spiegels tijdens de daarop volgende dagen. De oorzaak van de hoge insulinespiegel op dag 22 p.c. en van de normaal op de eerste dag na de geboorte optredende daling van deze spiegel, is dus geheel binnen het jonge dier gelegen. Regelsignalen van moederlijke of placentaire herkomst kunnen hierbij geen rol spelen.

In de slotbeschouwing in hoofdstuk V is getracht de resultaten van onze onderzoeken in samenhang met elkaar te bespreken en worden enkele mogelijkheden voor verder onderzoek aangegeven.